

Etude chez l'animal de l'activité cancérigène possible d'un complexe fer dextran

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE L'INSTITUT PASTEUR DE LYON

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 17 Décembre 1962

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Pierre ANTONIETTI

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire

Né le 7 Septembre 1933, au MANS (Sarthe)



LYON

Imprimerie BOSC Frères
42, quai Gailleton, 42

1962

Etude chez l'animal de l'activité cancérigène possible d'un complexe fer dextran

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE L'INSTITUT PASTEUR DE LYON

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 17 Décembre 1962

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Pierre ANTONIETTI

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire

Né le 7 Septembre 1933, au MANS (Sarthe)



LYON

Imprimerie BOSC Frères
42, quai Gailleton, 42

1962

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen Honoraire M. J. LEPINE, Membre de l'Institut.
 Doyen M. H. HERMANN, Correspondant de l'Institut
 Assesseurs MM. M. LEVRAT et L. REVOL.

Professeurs Honoraires : MM. COLLET, GUIART, PATEL, LEPINE, TRILLAT, MOURIQUAND,
 MAZEL, GARIN, GATE, MARTIN, GABRIELLE, SANTY, DUCLOS, GUILLEMINET.

PROFESSEURS

Physiologie AMM.	HERMANN.	Parasitologie et pathologie exotiqueMM.	COUDERT.
Clinique urologique	CIBERT.	Clinique d'oto-rhino-laryn- gologie et d'audio-pho- nologie	MOUNIER- KUHN. PAUFIQUE.
Physique biologique	PONTHUS (dét. à Bey- rout).	Clinique ophtalmologique .	THIERS.
Clinique neuro-psychiatri- que et hygiène mentale.	DECHAUME.	Clinique de dermatologie, syphiligraphie et allerge- nologie	BRUN.
Thérapeutique chirurgicale et chirurgie opératoire.	ROCHET.	Clinique de pneumo-phti- siologie	CREYSEL.
Clinique organique et toxi- cologie	CHAMBON.	Clinique traumatologique des membres	DARGENT.
Clinique chirurgicale B ..	WERTHEIMER.		GUICHARD.
Clinique médicale B	PAUPERT- RAVAULT.	Cancérologie	GIRARD Paul.
Clinique et prophylaxie cardio-vasculaires	FROMENT.	Anatomie pathologique ..	LATARJET.
Clinique médicale C	CROIZAT.	Pathologie générale et ex- périmentale	PEYCELON.
Chimie biologique et médi- cale	ENSELME.	Anatomie	GIRARD Marcel.
Clinique chirurgicale A ..	MALLET-GUY.	Pathologie chirurgicale ..	VACHON.
Pharmacie galénique et matière médicale	REVOL.	Thérapeutique	GALY.
Clinique gynécologique ..	POLLOSSON.		PAPILLON.
Clinique obstétricale	PIGEAUD.	Pathologie médicale	JEUNE.
Médecine du Travail	BOURRET.	Physio-pathologie des voies respiratoires	GONIN.
Clinique médicale A	LEVRAT.	Radiologie	MONNET.
Hygiène et action sanitaire et sociale	SOHIER.	Clinique des maladies in- fectieuses	BANSSILLON.
Clinique médicale infantile et hygiène du premier âge	BERNHEIM.	Hydrologie thérapeutique, climatologie et écologie sociale	CHATONNET.
Biologie médicale et phar- macodynamie	JOURDAN.	Bactériologie	GUINET.
Botanique et cryptogamie.	NETIEN.	Physiologie et pathologie obstétricales	TRILLAT.
Clinique chirurgicale C ..	BERTRAND.	Physiologie B	FREIDEL.
Chimie analytique pharma- ceutique	BADINAND.	Clinique endocrinologique.	X...
Pharmacie chimique et pharmacologie	DREVON.	Clinique de chirurgie or- thopédique	
Médecine légale et déonto- logie	ROCHE.	Clinique stomatologique ..	
		Histologie	

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

Physique nucléaire appliquée à la médecine	MM. BERGER.
Bactériologie	BERTOYE.
Physiologie	CIER J.-François.
Technologie pharmaceutique	DORCHE.

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Parasitologie	MM. ROMAN.
Pharmacie chimique et pharmacologie	CIER André.
Chimie organique et toxicologie	PERROT.

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Médecine		Anatomie	MM. BOUCHET.
Anatomie pathologique	MM. FEROLDI.	Anatomie pathologique ..	TOMMASI.
Chimie biologique et mé-		Hygiène	RIFFAT.
dicale	CREYSSEL R.	Pathologie expérimentale .	JOUVET.
Anatomie	DUROUX.	Hématologie	FAVRE-GILLY.
Thérapeutique	BRETTE.	Pharmacie	
Histologie	DUMONT.	Botanique et cryptogamie	MM. ODDOUX.
Hygiène	THIVOLET.	Chimie analytique	MALLEIN
Parasitologie	GARIN.	Chimie biologique	GRAS.
Physique	MORET.	Physique	PEYRIN.

AGREGES EN EXERCICE

Médecine générale	MM. PONT.	Dermatologie	MM. COLOMB.
Médecine générale	VIGNON.	Médecine du travail	TOLOT F.
Médecine générale	REVOL.	Neuro-psychiatrie	GUYOTAT.
Médecine générale	PLAUCHU.	Neuro-psychiatrie	SCHOTT.
Médecine générale	TRAEGER.	Obstétrique	DUMONT.
Chirurgie générale	MARION.	Ophtalmologie	BONAMOUR.
Chirurgie générale	MICHAUD.	Urologie	DURAND.
Chirurgie générale	JAUBERT-	Médecine générale	GARDE.
	DE-BEAUJEU.	Médecine générale	PERRIN.
Chirurgie générale	SAUTOT.	Médecine générale	LARBRE.
Chirurgie générale	GUILLEMIN.	Médecine générale	MORNEX.
Obstétrique	BURTHIAULT.	Médecine générale	NORMAND.
Oto-Rhino-Laryngologie . .	GIGNOUX.	Chirurgie générale	MARET.
Pédiatrie	FRANÇOIS.	Chirurgie générale	DESCOTES.
Médecine générale	DEVIC.	Electro-radiologie	CHASSARD.
Médecine générale	DESPIERRES.	Neuro-chirurgie	ALLEGRE.
Chirurgie générale	DE MOURGUES.	Ophtalmologie	HUGONNIER.
Chirurgie générale	FRANCILLON.	Orthopédie	FAYSSE.
Chirurgie générale	SAUBIER.	Oto-Rhino-Laryngologie . .	GAILLARD.
Médecine légale	COLIN.	Pneumo-ptisiologie	KALB.

EXAMINATEURS DE LA THESE

**Président : J. P. GIRARD ; Assesseurs : MM. MONNET,
DESPIERRES et GARDE.**

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation.

A MES GRANDS-PARENTS

A MES PARENTS

Qu'ils trouvent ici le témoignage de
mon affection.

A MON FRERE

A MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur P. GIRARD

Professeur de Pathologie Générale et Expérimentale
Médecin des Hôpitaux

Il nous a permis de réaliser ce travail dans son laboratoire.

Nous le remercions de nous avoir fait l'honneur de bien vouloir présider le jury de cette thèse. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude.

A NOS JUGES

Monsieur le Professeur P. MONNET

Professeur de Bactériologie
Médecin des Hôpitaux

Monsieur le Professeur Agrégé DESPIERRES

Médecin des Hôpitaux

Monsieur le Professeur Agrégé GARDE

Médecin des Hôpitaux

Nous les remercions de l'honneur
qu'ils nous ont fait en acceptant de
juger ce travail.

Qu'ils veuillent bien trouver ici l'ex-
pression de notre gratitude.

A Monsieur le Docteur VIALIER

Il nous a toujours accueilli avec une cordiale sympathie. Il nous a permis d'utiliser sa documentation et nous a apporté l'appui précieux de son expérience et de ses connaissances.

Qu'il soit assuré de notre respectueuse reconnaissance et de notre profond attachement.

A Monsieur le Médecin Lieutenant-Colonel VITTORI

*Professeur Agrégé du Val-de-Grâce,
Chef des Services Chirurgicaux
de l'Hôpital Militaire d'Instruction Des Genettes*

Nous avons passé un semestre dans son service. Il a toujours fait preuve à notre égard d'une extrême bienveillance et a contribué à notre formation chirurgicale.

Nous lui adressons nos plus vifs remerciements.

A Monsieur le Médecin Commandant ROUMAGOUX

*Spécialiste des Hôpitaux Militaires,
Chef du Service de Pneumo-Phtisiologie
de l'Hôpital Militaire d'Instruction Des Genettes*

Nous avons pu admirer son enthousiasme médical et la clarté de son enseignement dont nous avons pu tirer le plus grand profit.

Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de notre vive reconnaissance et de notre profond respect.

A Monsieur le Médecin Général BORON

*Professeur Agrégé du Val-de-Grâce,
Directeur de l'Ecole du Service de Santé Militaire et
de l'Hôpital Militaire d'Instruction Des Genettes*

A Monsieur le Médecin Colonel CAMELIN

*Professeur Agrégé du Val-de-Grâce,
Médecin-Chef
de l'Hôpital Militaire d'Instruction Des Genettes*

A Monsieur le Médecin Commandant MOINE

Professeur Agrégé du Val-de-Grâce,

A Monsieur le Médecin Capitaine ANNE

Assistant des Hôpitaux Militaires.

A Monsieur le Médecin Capitaine PIROLLET

Assistant des Hôpitaux Militaires.

A MES CAMARADES DE L'ECOLE
DU SERVICE DE SANTE

INTRODUCTION

En 1957, H.-G. Richmond a publié les résultats d'une expérimentation réalisée chez le Rat. Des injections importantes et répétées d'un complexe (fer dextran) avaient amené le développement de sarcome au point d'injection.

Ces publications déclenchèrent la consternation parmi les cliniciens qui utilisaient ce produit dans le traitement des anémies ferriprives et furent l'origine de tout une série de discussions et de controverses.

Au Laboratoire de Pathologie Expérimentale de la Faculté de Médecine de Lyon, M. Viallier s'intéressa à ces problèmes et réalisa une expérimentation sur un grand nombre d'animaux. Bien qu'à l'heure actuelle cette question semble être réglée, nous avons réuni en cette thèse, une documentation bibliographique et expérimentale qui nous permettra d'apporter un certain nombre de conclusions.

Nous aurons vu essentiellement la recherche d'une activité cancérigène possible chez l'animal de ce complexe, mais nous apporterons aussi un certain nombre de données anatomo-pathologiques concernant les lésions découvertes dans l'organisme vivant, consécutives à l'injection répétée de fer.

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE ET POSITION DU PROBLEME

Nous envisagerons successivement les notions fondamentales et les recherches qui ont conduit à la préparation du complexe fer dextran, puis ultérieurement les données bibliographiques concernant l'activité cancérigène possible du produit et les notions qui ont amené à le retirer de l'arsenal thérapeutique humain.

A) Le fer dextran

1° Raisons de sa préparation et son utilisation en thérapeutique humaine

Le traitement de l'anémie du prématuré par les transfusions de sang précoces et répétées est de réalisation technique délicate, et même si cet écueil est franchi par la méthode préconisée par P. Monnet d'utilisation de la fontanelle postérieure comme voie d'introduction sanguine, il n'en demeure pas moins que la nécessité de transfusions répétées oblige à des manipulations fréquentes du prématuré en bas-âge qui lui sont préjudiciables.

Enfin, toute transfusion a son pourcentage minime possible d'incidents, sinon d'accidents.

C'est pourquoi la nouvelle préparation de fer dextran,

injectable par voie intra-musculaire, admissible et commercialisée en France, depuis quelques années, sous le nom d'imferon a été choisie de préférence. Outre sa facilité d'administration, elle supprimait les aléas des fers administrés par voie digestive.

Avant d'envisager les résultats cliniques obtenus dans le traitement de l'anémie précoce chez le prématuré, nous donnerons brièvement auparavant les caractéristiques pharmacologiques de l'imferon et nous étudierons très brièvement, le circuit du fer dans l'organisme humain, ainsi que ses particularités chez l'enfant.

2° Le fer dextran

C'est une solution colloïdale, d'un complexe dextran hydroxide ferrique dans du sérum salé isotonique à pH égal à 6.

La teneur en Fe de cette solution est de 50 mg par ml. Le produit est présenté en ampoules de 5 ml, contenant donc 250 mg de Fe métallique. Il doit être injecté par voie intra-musculaire.

ABSORPTION ET UTILISATION :

— Baird et Podmore en 1954, montrent qu'après une seule injection de 4 ou 5 ml de ce complexe chez l'adulte, le taux de fer sérique en un à deux jours s'élève rapidement et de façon importante. Il revient à la normale en 6 ou 7 jours, sans qu'il y ait eu simultanément une augmentation de l'excrétion urinaire ferrique.

— Neimann et Daubinet en 1957, chez trois nourrissons, âgés de six mois, font une épreuve d'hypersiderémie provoquée avec injection de un ml du produit, soit 50 mg de fer. Leurs conclusions sont les suivantes :

— Le fer injecté passe rapidement dans la circulation ;

— Après avoir saturé la sidérophiline, il s'y trouve probablement en partie sous forme ionisée.

— Le fer sérique reste encore élevé huit jours après l'injection.

— Son excrétion urinaire n'est pas augmentée de façon appréciable.

— L'utilisation du produit dans l'organisme est surtout démontrée dans un travail de Grimm et Hutt qui emploient un imferon radioactif par introduction, dans sa composition de Fe 59. Le fer est suivi aussi dans son étape plasmatique, puis réticuloendothéliale et hémoglobinique. Ces deux auteurs montrent que chez des patients présentant une anémie ferriprive, il y avait virtuellement 100 % d'utilisation du fer injecté pour la synthèse de l'Hémoglobine, lorsque le produit est injecté par voie intra-veineuse et 60 % d'utilisation rapide lorsque le produit est injecté par voie intra-musculaire.

TOXICITÉ ET TOLÉRANCE :

L'absence de toxicité du Fe dextran a été démontrée par les expérimentations chez l'animal (souris, lapin) de Beresford, Golberg et Smith, de Golberg, Smith et Martin, de Golberg, Fee et Martin.

Seul Neimann et Daubinet ont attiré l'attention sur le danger d'administration inconsidérée de Fe dextran pouvant aboutir à un état *d'hypersidérose*, puisque le Fe injecté n'est pas éliminé.

POSOLOGIE :

Elle est fonction du taux d'Hémoglobine et principalement du poids du sujet.

3° Métabolisme du fer chez l'adulte et ses particularités chez l'enfant

Le fait qui retient spécialement l'attention dans l'étude de l'excrétion du fer est l'impossibilité presque complète pour un sujet d'éliminer son fer, même en excès.

Cette absorption se *fait surtout au niveau du duodenum*. Elle n'est pas un simple phénomène de diffusion à travers une membrane, mais au contraire, il existe un transfert métabolique à travers la muqueuse intestinale réalisé grâce à la médiation au moins en partie d'une protéine élaborée par les cellules muqueuses : *la ferritine*.

Elle serait retenue dans la cellule muqueuse, un bloc se formerait et le fer additionnel n'aurait pas immédiatement accès à la circulation, mais serait libéré en fonction des besoins de l'organisme.

Une fois la barrière intestinale traversée, il serait recueilli par le courant sanguin lié à une Béta globuline, *la sidérophiline* et transporté aux lieux de stockage ou d'utilisation qui sont la moelle osseuse, le foie, la rate.

La majeure partie du fer sérique sera utilisée pour la synthèse de l'hémoglobine au niveau de la moelle osseuse. Le fer fixé sur la molécule d'hémoglobine de l'érythrocyte mur aura la destinée de cette cellule et au bout de 120 jours, il sera libéré par la mort de l'hématie au niveau de la rate et repris par la sidérophiline qui le remettra en circuit.

PARTICULARITÉS CHEZ LE NOUVEAU-NÉ :

Les particularités de ce métabolisme chez le nourrisson sont déterminées par *le stock du fer à la naissance* beaucoup plus faible qu'on ne le croyait récemment encore, surtout par les besoins intenses que nécessitent l'augmentation du volume sanguin et des masses musculaires. On

en déduit donc aisément le caractère quasi constant, d'un déficit hémoglobinique dans la deuxième partie de la première année : c'est l'anémie physiologique de la première enfance.

4° Résultats cliniques obtenus dans le traitement de l'anémie précoce chez le prématuré

Si en matière de traitement d'anémie tardive du prématuré, l'indication ferrique étant formelle, l'emploi intramusculaire de Fe dextran a donné d'heureux résultats, les thérapeutes furent sans idées préconçues quant à l'anémie précoce.

Nous tenons ici à citer, un certain nombre d'observations de P. Monnet et Thevenon qui ont contribué à affirmer la réussite thérapeutique de l'emploi du fer dextran dans le traitement de l'anémie précoce.

L'étude porte sur 60 prématurés qui présentèrent pendant leurs trois premiers mois, durant leur séjour dans l'unité de prématurés, un taux de globules rouges inférieur à 3.500.000 et ou un taux d'hémoglobine inférieur à 10 g pour 1.000 et reçurent de ce fait, une ou plusieurs injections d'Imferon.

Le jour de la première injection fut désigné sous le nom de jour J., c'est aussi le jour du contrôle sanguin point de départ.

Les contrôles hématologiques postérieurs au jour J. furent sériés en trois catégories :

- ceux qui eurent lieu entre 12 et 28 jours,
- ceux qui eurent lieu entre 28 et 60 jours,
- ceux qui eurent lieu au-delà du 60^e jour.

Ces sujets furent comparés à des sujets-contrôle suivant les mêmes critères. Ils purent avoir reçu pour leur anémie, des traitements variés mais en tous cas pas d'Imferon.

12 ne reçurent aucun traitement à visée antianémique,

quant aux autres, ils reçurent des traitements variés, volontiers associés (peptonate ou gluconate ferreux per os, injection d'extraits hépatiques, acide folique, transfusions de sang).

RÉSULTATS OBTENUS :

On a remarqué d'une part, que la tolérance du produit fut excellente à condition de n'injecter, en une fois, que des doses faibles.

On a pu affirmer d'autre part, par les résultats obtenus, que l'imferon a notablement amélioré les constantes hématologiques du prématuré atteint d'une anémie précoce, mieux que n'ont pu le faire en moyenne, les divers autres traitements antianémiques y compris les transfusions.

Ce traitement fut volontiers suivi d'une amélioration de l'état de l'enfant et d'une meilleure prise pondérale.

B) Rôle cancérigène du complexe fer dextran

a) Essais chez l'animal

Dans le *British Medical Journal* de 1959, Richmond a étudié la production de sarcomes chez le Rat, consécutive à des injections répétées de fer dextran.

Il a pour cela utilisé des rats appartenant tous au même lot « Home bred Hood » chez lesquels on n'a jamais obtenu de tumeur spontanée dans les Laboratoires jusqu'à ce jour.

Ces rats étaient nourris au régime n° 1 (Thomson cube), dont l'analyse détaillée nous est inconnue, additionné de salade.

L'expérimentation s'est déroulée de la façon suivante :

— Au cours de la première expérience, tous les animaux étaient adultes mâles et leur poids oscillait entre 250 et 300 grammes au début de l'expérience.

- 40 rats reçurent une injection intra-musculaire à 0,4 ml de complexe fer dextran à la partie supérieure de la cuisse droite, chaque dose contenant 20 mg de fer sous forme d'hydroxyde ferrique combiné à des molécules de dextran à faible poids moléculaire.
- 12 rats reçurent une injection intra-musculaire par semaine, de 0,5 ml de « ferrivenin » sous anesthésie à l'éther avec des interruptions occasionnelles inhérentes au développement de l'ulcération. Chaque injection contenait 10 mg de fer sous forme d'oxyde saccharique de fer.
- 12 rats reçurent chaque semaine, des injections de 0,5 ml de dextran de faible poids moléculaire.
- 12 rats reçurent chaque semaine, des injections de 0,5 ml de sérum salé isotonique.

De cette première expérience il résulte que :

— 17 des 40 animaux ayant reçu le fer dextran furent tués durant les premiers mois.

Sur les 23 restants, 16 développèrent des tumeurs au point d'injection entre le 11^e et le 13^e mois d'expérimentation.

— Les rats ayant reçu pendant 17 mois, du dextran seul, de faible poids moléculaire ou du sérum salé isotonique ne développèrent pas de tumeurs.

Une deuxième expérience fut également entreprise. Les animaux étaient des rats sevrés des deux sexes ayant un poids moyen de 48 grammes.

- 20 mâles et 20 femelles reçurent des injections intra-musculaires, deux fois par semaine, de complexe fer dextran au niveau de la partie supérieure de la cuisse droite, à des doses variables, selon le poids des animaux et basées sur le schéma suivant :

0,1 ml jusqu'à 100 g.

0,2 ml jusqu'à 150 g.

0,3 ml jusqu'à 200 g.

0,4 ml au-dessus.

— 6 mâles et femelles reçurent des volumes correspondants de solution de dextran, de faible poids moléculaire.

Cette expérimentation fut arrêtée après trois mois, chaque animal ayant reçu 9,5 ml du complexe fer dextran.

Dans cette expérience, des tumeurs se développèrent chez 10 femelles et 12 rats mâles, au lieu de l'injection entre la sixième et la huitième semaine.

Ceux qui furent traités par le dextran seul ne développèrent aucune tumeur.

Discussion

De toutes ces expériences, il ressort une notion qui apparaît indiscutable : *l'innocuité de la fonction dextran*. Ce produit en effet employé seul semble dépourvu d'activité cancérogène.

Par contre, il ressort clairement que l'injection intramusculaire du complexe fer dextran produit des tumeurs cancéreuses au point d'injection. Le fer serait-il alors le seul responsable ? C'est ce que l'on a tendance à admettre, étant donné la rapidité d'élimination du dextran.

Celui-ci une fois injecté sous la forme du complexe fer dextran serait rapidement éliminé et seul, le fer resterait au milieu des tissus combiné aux protéines pour former l'hémosidérine comme l'a démontré Golberg en 1957.

Depuis sa création le complexe fer dextran, il est vrai, a été largement utilisé dans le traitement des anémies ferriprives sans provoquer d'accidents notables, mais si les doses administrées varient avec les besoins des maladies (doses pouvant aller jusqu'à 54 ml pour un patient de 81 à 64 kg), ceci contraste nettement avec les doses administrées chez le Rat qui sont de 17,6 à 25,6 ml dans

la première expérimentation et de 9,5 ml chez les plus jeunes rats de la deuxième expérimentation.

Il est bien évident que ces dosages massifs sont énormes quand on les compare aux doses thérapeutiques.

Quoiqu'il en soit, on n'a jamais démontré que le fer est le véritable agent cancérigène bien que l'on ait étudié en détail son mode d'action.

On a, en effet, observé que les histiocytes au lieu d'injection et dans d'autres endroits de l'organisme (par exemple les cellules de Kupfer) contiennent en plus du pigment ferreux, des globules pigmentaires de lipofuchsine de nature céroïde, or il est bien connu que le développement de céroïde à travers les tissus du corps est un des caractères principaux de la déficience en vitamine E (Mason 1944).

Dans des expériences plus récentes, Golberg et Smith en 1958, ont montré que la céroïde apparue à l'occasion d'injection de fer pouvait être stoppée dans son développement par addition au régime d'alphatocophérol.

On est alors amené à penser que la voie par laquelle le fer influence le métabolisme intracellulaire serait le blocage de l'activité antioxydante de la vitamine E et vraisemblablement d'autres antioxydants de la cellule. Cette interférence ou ce blocage permettrait l'oxydation des graisses non saturées pour former le pigment jaune appelé céroïde (Casselman, 1951).

Malgré ces recherches, il reste tout de même à démontrer comment cette action du fer dans la cellule peut influencer sur la transformation de celle-ci vers la malignité.

— *Quelques mois après Richemond, Hadow et Horning dans le British Medical Journal* de 1960, publièrent des résultats d'expériences où ils obtinrent 20 sarcomes sur 30 rats et 27 sarcomes chez 37 souris, tous ces animaux ayant été traités par des injections répétées de fer dextran.

Ils démontrent également que le composé dextran ne provoque aucune action.

— Il est bien évident que dans ce cas, Hadow et Horning, ont démontré le pouvoir cancérigène du fer dextran chez ces animaux, mais ceci fut obtenu en injectant des doses massives pouvant atteindre parfois la valeur globale contenue dans le corps normal entier.

— Il est alors vraisemblable que de telles actions ont perturbé les échanges qui s'effectuent normalement dans l'organisme.

Quoiqu'il en soit, il faut en conclure qu'il n'y a pas de raison pour que la réaction carcinogénique en dépende et qu'il s'agit vraisemblablement d'autre chose que d'un effet local.

Des expériences plus récentes de Golberg et Smith des Laboratoires Bengel où ont été effectuées des injections répétées d'imferon à des doses représentant de multiples fois la dose clinique chez le Rat et d'autres espèces n'ont, en aucun cas, révélé une altération de la santé de ces animaux.

Ils ont cependant obtenu une petite quantité de tumeurs attribuables au fer dextran.

Hadow et Horning ont pensé que la réponse carcinogénique serait principalement due à la quantité totale administrée puis, secondairement, au rapport de celle-ci avec le poids du corps humain.

En fait, ce grand nombre de tumeurs obtenues au cours de leurs expériences leur est défavorable.

b) Observations chez l'Homme

Chez l'Homme, si le danger est moins important, ce serait cependant une erreur de vouloir l'ignorer et il doit néanmoins être pris en considération.

C'est pourquoi, à la suite de ces publications, on a essayé

d'étudier les suites plus ou moins lointaines consécutives à l'injection d'imferon chez des malades ayant été traités pour anémie ferriprive ou atteints de cancer en évolution, ayant entraîné une anémie plus ou moins importante.

A cet effet, furent publiées des observations de certains malades traités par le fer dextran, chez lesquels un certain nombre de cancers étaient apparus au point d'injection.

Crowley et Still en juillet 1960 publièrent l'observation d'une femme de 37 ans, atteinte d'un carcinome du col utérin au stade II, sans envahissement des annexes.

Après un entretien entre gynécologues et radiothérapeutes, il fut décidé de lui administrer un traitement à base de radium intracavitaire, suivi d'une hystérectomie de Wertheim.

— En juillet 1929, eut lieu la première application de radium. Elle fut suivie deux semaines après d'une deuxième application. A cette date, un examen de sang révéla une chute hémoglobinique de 65 %.

— En août, on entreprit un traitement à base de fer dextran.

— Le 4 septembre, 16 jours après la fin du traitement radiothérapique, fut effectuée l'hystérectomie de Wertheim suivie d'une seconde cure de fer dextran.

— 8 semaines après, on découvrit au niveau de la hanche droite, du côté où avait eu lieu les injections, une surface rouge, tendue, indurée, circulaire d'une surface de 8 cm de diamètre environ.

Elle fut admise à l'hôpital et l'exploration à ce niveau mit en évidence un tissu nécrotique gris et des preuves microscopiques de carcinome peu différencié.

Une radiothérapie palliative au niveau de la hanche droite apporta une rémission, mais l'amputation d'une partie postérieure de la cuisse droite fut nécessaire.

Découvertes histologiques :

La première biopsie au niveau du col mit en évidence un tissu carcinomateux et les lésions de la hanche droite excisées neuf mois plus tard, présentaient des cellules de même type.

Ces cellules tumorales étaient entourées d'un abondant stroma et dans celui-ci, mélangé aux cellules, on trouvait un grand nombre d'histiocytes contenant du fer.

Dans les autres parties, au contraire, le fer apparaissait à l'état libre dans les tissus.

Le dépôt de fer était supérieur à celui signalé par Golberg, lors d'injections similaires et la réaction fibreuse autour du carcinome était d'une exubérance inhabituelle.

Tout ceci cependant n'apportait pas la preuve que cette réaction était néoplasique.

Robinson, Bell et Sturdy, dans le *British Medical Journal* du 27 août 1960, publièrent l'observation d'une vieille fille de 74 ans, atteinte d'une anémie hypochrome depuis 1955.

Elle fut traitée par des transfusions de sang, du fer par voie orale et elle reçut 6 injections de fer dextran, entre octobre et décembre 1956, dans la région deltoïdienne gauche.

En février 1960, une tumeur ovale, molle, fut découverte à ce niveau et une exérèse pratiquée le 15 février mit en évidence sa nature sarcomateuse.

Rien pourtant ne pouvait, à priori, nous prouver que la tumeur était primitive ou secondaire aux injections pratiquées.

Il était encore plus difficile d'affirmer que le pigment ferreux identifié au niveau de la tumeur avait pour origine le fer dextran et non l'hémosidérine plasmatique, bien qu'une biopsie effectuée au hasard au niveau de l'autre deltoïde ne montra pas de traces de fer.

On en est donc venu à se demander si l'apparition de

ces tumeurs ne pourrait pas être due aux traumatismes répétés au cours de ces injections qui pourraient, en effet, favoriser en ce point la fixation de cellules circulantes et déclencher l'apparition de la métastase.

Dans le *British Medical Journal*, du 22 octobre 1960, *Worthy et Wynn* rapportèrent le cas d'une métastase apparue chez un sujet à la suite d'injections de pénicilline intra-musculaire.

On avait découvert chez ce sujet une opacité pulmonaire et une lobectomie avait été effectuée le 15 juillet 1957.

L'examen histologique de la pièce mit en évidence des cellules néoplasiques.

Ce sujet reçut entre le 8 et le 22 janvier 1957, 46 millions de pénicilline dans les deux cuisses.

En janvier 1958, apparut une tumeur d'un diamètre de 10 cm, molle, fluctuante à la partie supérieure de la cuisse droite. Après exérèse, on mit en évidence des cellules identiques à celles découvertes au niveau du poumon.

Ces expériences de Richmond, Hadow et Horning et ces observations cliniques tendraient donc à mettre en évidence la part importante que pourraient avoir les traumatismes répétés au niveau des tissus et le rôle prédominant qu'ils pourraient jouer dans l'apparition des tumeurs bien plus que le produit injecté lui-même.

CHAPITRE II

EXPERIMENTATIONS PERSONNELLES

A la suite des résultats publiés par Richmond, Hadow et Horning, démontrant le pouvoir cancérigène du complexe fer dextran chez le Rat, résultats appuyés par plusieurs observations cliniques dans lesquelles on montrait l'apparition de métastases au point de quelques injections du complexe, une série d'expériences furent entreprises au Laboratoire de Pathologie Expérimentale de la Faculté de Médecine de Lyon.

Elles furent l'objet d'une publication de M. J. Viallier et de Mme Rebouillat à la Société de Biologie, à la séance du 19 mars 1962, et elles ont été effectuées chez le Rat d'une part, chez la Souris d'autre part. Nous envisagerons donc chez ces deux groupes d'animaux, les conditions expérimentales et les résultats obtenus.

A) Expérimentation chez le Rat

Il s'agissait également de mettre en évidence l'apparition d'éventuelles tumeurs chez le Rat, après l'injection répétée de fer dextran.

— Ce complexe fer dextran utilisé était préparé selon une licence britannique. Il s'agissait d'une solution stable, contenant l'équivalence de 0,050 g de fer par millilitre.

Cette solution neutre et isotonique était facilement injectable et a été utilisée sans dilution dans du sérum physiologique.

Chaque injection apportait à l'animal sous un volume de 0,1 ml, 5 mg de fer, ce qui représente environ 32,5 mg. par kg.

Ces injections ont été faites régulièrement à raison d'une par semaine et toujours dans les muscles de la face externe de la cuisse gauche lorsque le nombre d'injections a été restreint, dans les muscles alternativement de chaque cuisse en cas de traitement prolongé.

L'injection amenant des modifications tissulaires locales, il a fallu parfois une interruption transitoire de quelques semaines lorsque le nombre des injections dépassait 16 à 20.

Les rats utilisés étaient des rats blancs, de souche Whistar, souche pure entretenue au Laboratoire et ayant la particularité d'avoir une très faible incidence cancéreuse spontanée.

Il s'agissait d'adultes d'au moins quatre à cinq mois, certains cependant étaient âgés de 6 à 8 mois au début du traitement.

— Ces animaux étaient disposés dans des cages métalliques et leur nombre ne dépassait jamais 25 par cage. Il y avait autant de mâles que de femelles chez les traités et chez les témoins. Les sexes étaient séparés et les femelles utilisées étaient toutes vierges.

Les animaux témoins et traités étaient soumis à une insolation importante durant une grande partie de la journée, mais approximativement d'égale intensité pour les différents groupes.

— Le régime alimentaire à base de biscuits synthétiques était le régime habituel du chenil, qui était employé depuis de nombreuses années au Laboratoire et qui n'avait pas provoqué un pourcentage élevé de tumeurs spontanées. Certaines étaient effectivement apparues mais en nombre très restreint

précautions d'asepsie et de stérilité nécessaires, sans tou-

— Les injections ont toujours été effectuées avec les

tefois qu'il ait été possible d'utiliser pour chaque animal une seringue différente.

— Dès qu'une mort spontanée survenait, le Rat était retiré le plus rapidement possible de la cage et mis au frigidaire afin d'être autopsié dans les meilleures conditions possibles.

Cette autopsie comprenait toujours la palpation de la région où se faisaient les injections. L'état du muscle était soigneusement examiné et l'on recherchait toujours l'existence d'éventuelles adénopathies.

Chaque tumeur décelée était soigneusement notée.

On procédait ensuite à l'ouverture de l'animal et les cavités thoracique et abdominale étaient particulièrement examinées. A plusieurs reprises, des prélèvements de muscles ou de viscères furent pratiqués afin d'effectuer un examen histologique indispensable à l'élaboration d'un diagnostic certain.

Quant à l'épizootie apportée par des animaux malades et qui évolua un certain nombre de semaines, elle atteignit aussi bien des animaux traités que des témoins et ne parut pas affecter une catégorie plus que l'autre.

L'expérimentation s'est déroulée de la façon suivante et nous en rapporterons les résultats globaux en les examinant série par série.

1° *En avril 1960, une première expérimentation fut commencée*, portant sur cent rats traités ou témoins. Chez ces animaux, quelques-unes des femelles n'ont été utilisées qu'ultérieurement, après un an d'isolement.

Une épizootie survint au bout d'un certain nombre de semaines de traitement, ce qui amena une forte mortalité chez les rats traités et les témoins. Ceci entraîna une suspension des injections pendant trois mois.

Les survivants furent de nouveau réinjectés à plusieurs reprises et leur mort spontanée fut attendue.

Tous les résultats obtenus peuvent être groupés suivant les résultats de trois lots expérimentaux comportant mâles

et femelles en nombre équivalent et un lot servit de témoins. C'est ainsi que 56 animaux au total, peuvent être considérés comme valables.

— Parmi les 30 animaux traités, il fut découvert un sarcome de la vessie chez un rat mâle, 14 mois après le début du traitement, et qui avait reçu 22 injections.

— 2 épithéliomas mammaires sont apparus chez deux rats femelles, 6 ou 7 mois après le début de l'expérimentation, et qui avaient reçu 14 injections.

— Chez tous ces animaux on n'a jamais observé de sarcome aux points d'injections et ceci malgré un examen attentif des cuisses, là où les injections avaient été pratiquées.

— En ce qui concerne les témoins, 26 animaux, soumis aux mêmes conditions de vie, d'alimentation et d'âge, mais non injectés, n'ont fourni aucun cancer.

2° En octobre 1960, une deuxième série d'expérimentations a été entreprise. Elle a porté sur 98 rats blancs, de race identique à celle des animaux précédents, mais provenant d'un élevage différent.

L'expérimentation fut également conduite d'une toute autre façon.

Les injections étaient hebdomadaires et chaque injection était de 0,20 ml, soit de 10 mg de fer. Ces rats ont donc reçu une quantité beaucoup plus considérable de substance cancérogène possible.

Dans les cas les plus favorables, lorsque les animaux ont survécu assez longtemps, il fut donc pratiqué 51 injections ayant apporté à l'animal 510 mg de fer, ce qui représente environ un peu plus de 2 g par kg.

En ce qui concerne les résultats, il n'a été tenu compte bien entendu, que des animaux pour lesquels nous avons pu effectuer une autopsie correcte ayant comporté un examen viscéral d'une part, et d'autre part, un examen local attentif des muscles au niveau des injections répétées.

Celles-ci ne se sont pas déroulées sans dommages locaux importants au niveau du muscle et l'on fut alors amené à pratiquer les injections alternativement à chacune des deux cuisses.

En effet, l'injection unilatérale amenait un gonflement des muscles et entraînait des modifications tissulaires profondes.

Au cours de cette expérimentation, 97 rats sont morts ou ont été sacrifiés sans que l'examen ne révèle de cancer.

60 rats ont survécu plus de six mois et 11 plus de douze mois.

Un seul est mort avec un lymphosarcome intestinal confirmé par l'examen histologique.

En somme, de ces deux expérimentations ayant porté sur 154 rats, on ne peut pas tirer de conclusions formelles.

— En ce qui concerne la première série de la première expérimentation, nous voyons qu'il a été découvert un sarcome de la vessie chez un rat mâle âgé de plus de douze mois et ayant reçu plus de 90 mg du produit. On ne trouve cependant jamais aucune métastase ni aucun sarcome au point d'injection chez ce rat.

— Dans la deuxième série de cette expérimentation on découvrit deux cancers mammaires histologiquement confirmés, se caractérisant par une tuméfaction au niveau de la région thoracique. C'est un épithélioma qui ne se rencontrait pratiquement jamais parmi les rats de cette souche. En effet, dans cet élevage, l'observation de milliers d'animaux n'avait pas permis d'en mettre en évidence.

Le premier a été découvert après le troisième mois de traitement et le deuxième après le neuvième mois. On ne peut en tous cas affirmer qu'ils étaient induits par l'injection du complexe fer dextran.

En réalité, ce lot expérimental était composé d'animaux qui étaient âgés de plus de douze mois, car ils avaient été isolés un an auparavant, avant que l'on commençât le traitement, si bien que les rats ayant présenté cet épithé-

lioma ont été sacrifiés alors que leur âge dépassait quinze mois.

L'observation habituelle des rats non injectés porte en fait sur des rats moins âgés et il serait possible que des tumeurs mammaires spontanées soient découvertes, si les observations portaient sur plusieurs centaines de rats âgés de plus de quinze mois.

Bien qu'il soit difficile de tirer de toute expérimentation des conclusions formelles, car il existe toujours un certain nombre de facteurs aberrant tenant aux conditions expérimentales, il ne semble cependant pas que l'on puisse retenir un rôle cancérigène du complexe fer dextran utilisé.

Il est même remarquable de constater l'absence de sarcome au point d'injection chez ces animaux qui ont reçu de nombreuses injections.

Nous insisterons beaucoup sur le fait que la dose utilisée dépasse de beaucoup celle utilisée en thérapeutique humaine. Elle est cependant inférieure à celle utilisée expérimentalement par Richmond, qui injectait jusqu'à 0,4 ml de fer dextran par semaine.

B) Expérimentation chez la Souris

Il s'agit ici également de mettre en évidence l'apparition d'éventuelles tumeurs après l'injection répétée de fer dextran. On a utilisé pour cela l'imferon commercial, solution colloïdale du complexe fer dextran dans du sérum salé isotonique à 9 ‰ et à pH égal à 6.

La teneur en fer de cette solution est de 5 mg par ml et chaque ampoule contenant 5 ml du produit, soit 250 mg de fer métallique. Les animaux traités ont donc reçu l'imferon à la dose de 1/10 de cc dilué au 1/10 dans du sérum physiologique.

Les injections ont toujours été effectuées avec les précautions d'aseptie et de stérilité nécessaires, mais il n'a

pas été cependant possible d'utiliser une seringue différente par animal.

Ces injections ont été faites régulièrement au rythme de une par semaine au niveau de la face externe de la cuisse gauche. Le rythme a cependant dû être interrompu par des périodes de repos nécessitées par l'état local des muscles de la cuisse où le dépôt de fer apportait des modifications importantes de la région injectée.

Les souris étaient disposées dans des bocaux de verre et elles étaient réparties en lots de 15 environ.

Elles étaient nourries d'avoine, de pain et de biscuits et elles avaient à leur disposition de l'eau contenue dans un biberon.

Les souris témoins et traitées étaient séparées, mais les conditions d'existence étaient identiques pour ces deux groupes, en particulier en ce qui concerne le chauffage l'hiver et l'insolation l'été.

Dès qu'une mort spontanée survenait, la souris était retirée le plus rapidement possible de la cage et mise au frigidaire, afin d'être autopsiée dans les meilleures conditions possibles.

Cette autopsie comprenait toujours la palpation de la région où se faisaient les injections. L'état du muscle était soigneusement examiné et l'on recherchait toujours l'existence d'éventuelles adénopathies. Chaque tumeur décelée était soigneusement notée.

On procédait ensuite à l'ouverture de l'animal et les cavités thoraciques et abdominales étaient particulièrement examinées.

A plusieurs reprises des prélèvements de muscles ou de viscères furent pratiqués, et un examen histologique fut effectué afin d'étayer de façon certaine le diagnostic.

1° *Première expérimentation :*

Les souris utilisées dans la première expérimentation étaient des souris blanches de race Swiss entretenues au Laboratoire de Pathologie Expérimentale.

— La première série expérimentale a comporté *17 souris mâles* qui ont reçu 7 injections intramusculaires puis ont été laissées sans traitement.

En même temps, *16 souris mâles* ont servi de témoins de cancérisation. Elles ont été maintenues dans les mêmes conditions d'habitation et de nourriture, mais n'ont reçu aucune injection du complexe.

Tous les animaux sont morts dans les douze premiers mois et seule, dans le lot des traités, une souris a été trouvée porteuse d'un épithélioma mammaire.

— La deuxième série expérimentale a comporté *11 souris femelles* qui ont reçu au total 3 injections, puis ont été laissées au repos.

10 souris témoins femelles sont mortes spontanément à des intervalles plus ou moins lointains, cependant aucun cancer n'a été constaté dans l'un et l'autre groupe.

— La troisième série expérimentale a utilisé 354 souris de la même race Swiss à faible incidence cancéreuse spontanée.

Les animaux ont été distribués en différents groupes, selon leur survie et la quantité de fer reçue.

Ces souris ont été sacrifiées après le quinzième mois de survie et parfois plus tôt, soit qu'il apparaissait une tumeur dont on voulait connaître l'aspect histologique, soit parce que se manifestait une atteinte pathologique que l'on désirait vérifier. Chez certaines de ces souris en effet, la survie a été troublée par une série d'atteintes infectieuses et de suppuration entraînant une certaine mortalité. Tout se passait comme si les injections du complexe entraînaient une atteinte du système réticulo-endothélial et troublaient les fonctions immunitaires.

Au cours des autopsies, nous avons eu l'occasion de prélever à de nombreuses reprises du muscle au point d'inoculation et de petits ganglions lymphatiques correspondants.

L'histologie a montré au niveau du tissu musculaire, un

dépôt de fer important, une atrophie de certaines fibres musculaires, une hyperactivité du système lymphoïde. Nous n'avons cependant jamais noté d'éléments histologiques pouvant faire songer à un sarcome.

Toute masse suspecte d'autre part, a été prélevée et examinée.

— Sur 145 mâles qui ont été traités, 59 survivaient au delà du douzième mois. Nous n'avons noté parmi eux aucun sarcome, mais par contre on a décelé un *épithélioma mammaire* qui fut le seul cancer observé parmi les souris mâles traitées.

— Les témoins comprenaient 60 mâles et 8 seulement vécurent plus de douze mois. On ne décela parmi eux aucun cancer.

— Sur 84 femelles traitées, il y eut 39 survivantes au delà du douzième mois. Elles ont cependant permis d'enregistrer 5 *épithéliomas mammaires* ou du moins cancers glandulaires. Toutefois, nous n'avons jamais trouvé aucun sarcome au niveau des muscles injectés.

— Pendant la même période, 65 femelles témoins nous ont fourni parmi les 26 survivantes au delà du douzième mois 7 *épithéliomas mammaires*.

Nous n'avons donc pas, au cours de cette expérimentation chez la souris de race Swiss, trouvé un rôle cancérigène du mélange fer dextran.

La souche utilisée avait, il y a quelques années, une très faible incidence cancéreuse. Elle est actuellement en augmentation certaine et ceci sans doute par apport de virus cancérigène.

Parmi les animaux de notre élevage, pour une population totale d'environ 300 souris d'âge différent, nous avons trouvé en novembre et décembre 1961, 3 *épithéliomas mammaires* spontanés et 2 en mai et juin 1962.

Le petit nombre d'*épithéliomas mammaires* rencontrés

chez les traités ne nous permet cependant pas d'évoquer ici l'action du complexe injecté.

Il faut également signaler que nous n'avons jamais obtenu dans les conditions où nous sommes placés, de sarcome développé au point d'inoculation.

2° *Deuxième expérimentation :*

Une deuxième expérimentation a été également entreprise au Laboratoire de Médecine expérimentale, mais il s'est agi cette fois de souris blanches de souche P.S. isolée à l'Institut Pasteur de Lyon par Mme Jacqueline Mouriquand et M. Claude Mouriquand. Cette souche avait un pourcentage élevé d'épithéliomas spontanés. En réalité, ce pourcentage a baissé de façon considérable et pratiquement il est devenu équivalent ou très légèrement supérieur au pourcentage de tumeurs spontanées de la souche précédente.

Les différentes conditions de l'expérimentation étaient strictement identiques à la précédente.

— Sur 22 souris mâles qui ont été traitées, 1 survivait au douzième mois et avait reçu 47 injections.

Or, dans tout ce lot, nous n'avons noté ni sarcome au point d'injection, ni cancer.

Quant aux témoins, ils comprenaient au départ 24 souris mâles et sur ce lot 17 vécurent plus de douze mois. Il ne fut toutefois découvert ni sarcome au point d'injection, ni cancer parmi eux.

CHAPITRE III

CONSIDERATIONS D'ORDRE IMMUNOLOGIQUE

Les souris soumises à des injections répétées du complexe fer dextran reçoivent de ce fait une agression qui, certainement, n'est pas dépourvue de conséquences. Les animaux, en effet, reçoivent une quantité notable de fer qui se comporte comme un corps étranger. Une partie reste sur place au niveau de l'injection du muscle, mais une partie diffuse dans tout l'organisme et subit une macrophagie en particulier au niveau du système réticulo-endothélial.

L'attention a été attirée sur le fait que des animaux traités paraissaient plus sensibles aux injections que les animaux témoins. Un certain nombre de souris, en effet, étaient mortes en présentant des lésions du foie et de la rate de type toxi-infection et tout semble s'être passé comme si ces animaux injectés depuis un certain temps mouraient plus facilement d'épizootie de chenil.

Il est vrai que, malgré toutes les précautions prises, le fait des injections répétées favorise les infections en mettant en jeu le processus classique de la pathologie de la seringue.

Nous avons voulu vérifier cette activité possible des injections du complexe sur l'immunité et nous nous sommes adressés pour cela au procédé le plus simple, c'est-à-dire la recherche des agglutinines antityphoparatyphiques chez des souris vaccinées.

L'expérience a été conduite de la façon suivante :

Un lot de souris contient au départ le même nombre

d'animaux témoins et traités. Les animaux restent dans le même local, sont soumis aux mêmes conditions d'alimentation, d'habitation, de température. Tous reçoivent de la même façon du vaccin T.A.B., mais alors que pour les témoins il s'agit d'une dilution dans du sérum physiologique, pour les animaux traités il s'agit d'une dilution dans une solution d'imferon, elle-même diluée dans du sérum physiologique.

Les proportions de T.A.B. injecté restent bien entendu les mêmes pour les deux séries d'animaux.

Au bout d'un certain nombre d'injections, témoins et traités reçoivent en injection intrapéritonéale une petite quantité d'une ascite sarcomateuse d'ehrlich diluée. Cette injection amène la production chez la souris dans les quinze jours qui suivent, d'une ascite cancéreuse qui entraîne la mort de l'animal.

Cette ascite est recueillie par sacrifice de l'animal ou après sa mort, et dans ce cas il est nécessaire que le cadavre soit mis au réfrigérateur le plus rapidement possible.

Ce liquide est centrifugé et c'est dans la partie claire, surnageante, que l'on recherche les agglutinines comme s'il s'agissait d'un sérum. On sait en effet, que cette production d'ascite est utilisée pour obtenir une quantité plus importante d'anticorps. C'est là un procédé classique utilisé chez la souris, animal de petite taille ne pouvant fournir qu'une quantité limitée de sérum sanguin. Nous nous sommes assurés auparavant chez des souris témoins, porteuses d'une ascite d'Ehrlich volumineuse, que celle-ci ne renfermait jamais spontanément des agglutinines antityphiques. Du reste, au cours de l'expérimentation, quelques-unes bien qu'injectées, n'ont pas réagi et leur ascite ne contenait pas d'agglutinines.

Nous avons recherché uniquement sur ces ascites les agglutinines correspondant aux antigènes H des bacilles typhiques et paratyphiques A et B.

Nous rapportons ici le résultat de ces expériences.

Dans les deux expériences suivantes, nous nous sommes

adressés à des lots de souris qui comprenaient un lot témoin et un lot traité.

Les témoins ont reçu des injections régulières de 1/10 de ce T.A.B. dilué au 1/10.

Les traités ont reçu des injections régulières de T.A.B. dilué au 1/10 dans de l'imferon commercial dilué au 1/10 dans du sérum physiologique. Les injections ont eu lieu une fois par semaine.

L'EXPÉRIENCE A a débuté le 8 novembre 1961 et les souris qui étaient toutes des mâles, ont reçu un total de 8 injections.

La greffe péritonéale a eu lieu le 27 décembre 1961, et entre temps, deux témoins étaient morts.

— L'expérience s'est ensuite déroulée comme suit :

Le 8 janvier :

1 souris témoin	mort spontanée	A1
1 souris témoin	sacrifiée	A2
1 souris traitée	sacrifiée	A3

Le 9 janvier :

1 souris traitée	sacrifiée	A4
1 souris témoin	sacrifiée	A5

Le 10 janvier :

1 souris traitée	mort spontanée	A6
4 souris témoins	sacrifiées	A7 - A8 - A9 - A10

Le 12 janvier :

1 souris témoin	sacrifiée	A11
-----------------	-----------	-----

RESULTATS

	TH	AH	BH
A1	1/1.600	1/6.400	1/ 100
A2	1/ 400	1/1.600	1/ 200
A3	1/ 800	1/1.600	1/ 400
A4	1/ 800	1/6.400	1/ 100
A5	1/ 400	1/3.200	1/ 400
A6	1/ 800	1/ 800	— 1/ 100
A7	1/ 400	1/ 200	1/ 100
A8	— 1/ 100	— 1/ 100	— 1/ 100
A9	1/ 400	1/1.600	1/ 400
A10	1/6.400	1/1.600	1/1.600
A11	1/ 400	1/ 800	1/ 400

L'EXPÉRIENCE B a débuté le 10 janvier 1962 et les souris ont reçu un total de 7 injections.

L'injection d'ascite sarcomateuse eu lieu le 25 mars 1962 et entre temps deux souris du lot des traitées étaient mortes.

Le 19 mars :

1 souris témoin morte B1

Le 21 mars :

3 souris témoins sacrifiées B2 - B3 - B4

Le 21 mars :

3 souris traitées sacrifiées B5 - B6 - B7

Le 22 mars :

1 souris témoin sacrifiée B8

Le 22 mars :

1 souris traitée sacrifiée B9

RESULTATS

	TH	AH	BH
B1	1/1.600	1/ 400	1/ 100
B2	1/4.000	1/ 800	1/ 100
B3	1/1.600	1/1.600	1/ 400
B4	1/ 800	1/ 50	1/ 100
B5	1/3.200	1/ 400	1/ 200
B6	1/ 800	1/ 600	1/ 200
B7	1/1.600	1/3.200	1/ 800
B8	1/ 400	1/ 400	1/ 100
B9	1/ 800	1/6.400	1/1.600

Les expériences qui précèdent nous ont donc montré qu'il n'y avait pas de différence notable entre le taux des agglutinines chez les animaux témoins et chez les traités.

Nous avons voulu réaliser une autre série d'expériences chez des animaux traités pendant 3 ou 4 mois avec des antigènes T, mais les séries de souris préparées à cet effet n'ont pas survécu suffisamment longtemps.

Quoiqu'il en soit, l'expérience ne nous a pas montré de modifications des réactions immunitaires de l'organisme après injection de fer dextran.

CHAPITRE IV

CONSIDERATIONS ANATOMO-PATHOLOGIQUES

Est-il possible de décider en se basant sur l'expérimentation animale, si un composé chimique est ou n'est pas susceptible de se montrer carcinogène chez l'homme. Les critères sur lesquels on peut baser une réponse à cette question sont nombreux et variés.

Pour ce qui est du fer dextran, le problème est plus complexe par suite du métabolisme de ce complexe qui se transforme en ferritine et plus tard en hémossidérine.

A première vue, il semble qu'il s'agisse simplement d'une surcharge en fer, cependant ce point de vue méconnaît une différence très importante, qui sont les modifications locales au niveau de l'injection, qui suivent l'injection répétée des doses massives nécessaires pour **produire** les tumeurs chez le rat et la souris.

Ce problème a été particulièrement étudié par les auteurs anglais, en particulier Baker, Golberg, Martin et Smith, dans le *J. Path. Bact.*, de 1961.

Les modifications observées à l'endroit de l'injection de fer dextran ont été étudiées chez la souris, le rat, le lapin, le chien et l'homme. La rétention de fer dans le derme et le muscle a été mesurée par méthode chimique et les modifications locales ont été suivies au point de vue histologique depuis le moment de l'injection avec des doses de l'ordre de 10 à 100 fois la dose thérapeutique administrée seule ou plusieurs fois au même endroit.

B) Expérimentation chez la souris

— *Modifications tissulaires à l'endroit de l'injection provoquées par une injection unique à faible dose chez la souris :*

Une heure après une injection sous-cutanée de 0,02 ml de fer dextran, une coloration brune apparaît à la fois dans le derme et dans le tissu conjonctif sous-cutané. Ils constatent alors que les coupes colorées par le rouge neutre et le bleu de prusse tendant à mettre en évidence le fer, présentent une coloration bleue diffuse de tous les tissus, y compris la partie superficielle de la musculature abdominale et ils observent aussi le fer dans les vaisseaux lymphatiques très loin de l'endroit de l'injection. Toutefois, ils ne constatent pas de réaction cellulaire.

Au bout de quatre heures il existe des leucocytes polymorphes à l'endroit de l'injection, surtout autour du muscle nécrosé. Le panicule charnu du muscle situé immédiatement en dessous du derme est particulièrement vulnérable et parfois les faisceaux musculaires extérieurs du muscle profond sont également atteints. Dans les fibrocytes de la gaine musculaire on observe des granulations ferriques.

Au bout de huit heures, les corps présentent la coloration bleue diffuse du muscle nécrotique comme du collagène, mais le muscle sain renferme peu ou pas de fer. Des macrophages apparaissent et la présence de fer y est évidente comme dans les fibrocytes.

Au bout de vingt et une heures, la plus grande partie du fer se trouve située dans les macrophages et fibrocytes, avec une petite quantité encore fixée au collagène dermique.

Tout le muscle nécrotique est enlevé en quarante-huit heures et la régénération du muscle se déclenche.

Après sept jours, à part une petite coloration diffuse

du collagène, tout le fer susceptible de se colorer est intracellulaire.

La régénération du muscle semble complète au bout de quatorze jours.

— *L'injection d'une seule dose forte chez la souris* de 0,2 ml, soit 10 mg de fer dextran, provoque les mêmes modifications et aucune fibrose n'apparaît. Il y a cependant davantage de fer résiduel après trois mois.

— *Les injections de multiples doses faibles chez la souris* ont montré toutes les modifications observées à la suite d'une seule dose.

Cependant, chez de nombreux animaux auxquels on a administré trois injections ou davantage, la couche musculaire disparaît complètement dans les zones les plus infiltrées en fer.

Les modifications sont beaucoup plus importantes qu'au cours de l'injection unique et chez trois animaux qui ont reçu huit injections, ces auteurs ont même observé une apparition de fibrose.

— *Avec de multiples injections de fortes doses de fer dextran* on observe de nouvelles modifications qui semblent directement en rapport avec la quantité de fer administrée.

A l'examen macroscopique, on observe d'abord une perte des poils et une enflure persistante à l'endroit de l'injection. La peau forme parfois une masse résistante comme du cuir, que l'aiguille pénètre avec difficulté. La mobilité de la peau a disparu, le derme et le muscle se soudent ensemble en une masse œdémateuse.

Microscopiquement, chez toutes les souris, une semaine après trois injections sous-cutanées de 0,2 mg, une fibrose sous-dermique très nette apparaît, qui se forme d'abord au niveau du panicule charnu des muscles abdominaux profonds.

Les premiers signes en sont l'élongation des macrophages.

ges et leur orientation parallèle vers les surfaces musculaires. Ces macrophages sont lourdement chargés en fer et par là, facilement reconnaissables. Les fibres, le collagène se développent autour de ces cellules et l'aspect final ressemble à un tissu fibreux arrivé à maturité et renfermant du fer en grande quantité.

Quant au muscle nécrotique, il se trouve encore près des macrophages chargés de fer même au bout de plusieurs semaines et le fer extra-cellulaire se trouve sous forme granuleuse en raison sans doute de la disparition des macrophages.

En fait, au bout d'une année environ, sans avoir dépassé six injections, la décomposition de la fibrose et sa disparition presque complète ont été possibles, tandis qu'avec huit injections il y a encore du tissu fibreux entre la peau et le muscle.

On peut cependant affirmer qu'après une année, à la suite de une, deux, trois ou quatre injections de 0,2 ml chez la souris, on observe toujours le retour maximum possible à l'état original et que seul un petit amas de macrophages chargés de fer persiste dans un tissu par ailleurs normal.

b) Expérimentation chez le rat

Les doses qui ont été administrées oscillent entre 0,05 ml et 0,5 ml. En fait, si l'on se base sur le poids corporel de l'animal, ces doses étaient plus faibles que celles données aux souris.

Immédiatement après une dose faible de fer dextran, l'injection a formé un dépôt qui s'est répandu dans les tissus sous-cutanés, quant à la nécrose du muscle, la réaction polymorphonucléaire et l'absorption du fer par les macrophages, elles sont strictement identiques à celles observées chez la souris.

Après une unique dose forte de fer dextran, aucune

fibrose n'apparaît quant à la quantité de fer retenue dans les tissus, elle est naturellement plus forte.

L'étude des injections multiples a permis cependant d'enregistrer quelques différences.

— A faible dose, après seulement 4 injections il y a apparition nette de tissu fibreux autour des macrophages. La partie charnue musculaire en de nombreux cas disparaît complètement et il n'y a pas de régénération. Le point final est alors une fibrose étendue des tissus sous-cutanés.

Il existe aussi une grosse quantité de fer dans les fibroblastes nouvellement formés, dans les macrophages parmi le collagène dermique et dans les cloisons des muscles abdominaux.

— A forte dose on observe des différences très nettes.

Une semaine après deux injections de fer dextran, il y a déjà une fibrose considérable avec remplacement des sidérophages par des fibroblastes renfermant du fer. Les sidérophages dans le derme et dans le tissu graisseux immédiatement sous-jacent se présentent comme des cellules arrondies groupées. Ceux qui sont dans le voisinage du muscle ont plutôt tendance à s'aligner et le collagène se développe jusqu'à ce que toutes les cellules contenant du fer se trouvent encastrées. Quant à la régénération musculaire, elle est absente dans ce groupe comme dans celui ayant reçu de multiples doses faibles.

EXPÉRIMENTATION PERSONNELLE :

Chez des animaux traités par des injections répétées du complexe fer dextran, nous avons effectué un certain nombre de prélèvements histologiques au niveau des viscères et aussi au niveau du muscle. Nous n'insisterons pas sur les lésions viscérales rencontrées qui sont toutes du même type. Il s'agit en effet avant tout de lésions de surcharge ferrique rendant parfois véritablement méconnaissable le viscère.

Les lésions musculaires locales observées au niveau des injections ont davantage retenu notre attention, car il s'agit de lésions qui sont extrêmement importantes chez des animaux traités depuis longtemps.

Les fragments qui ont été prélevés à la cuisse chez tous les animaux ont été fixés au Bouin, inclus dans de la paraffine et colorés par les techniques à l'hématéine éosine safran. Les fragments concernant les masses ganglionnaires ont également été prélevés. Malgré les différences relativement minimales et d'ordre quantitatif, tous les fragments musculaires prélevés présentent les mêmes altérations.

Sous un épithélium Maipighien qui n'est habituellement pas modifié, on trouve un tissu formé de cellules adipeuses, avec, à sa partie la plus profonde, des amas de cellules macrophagiques volumineuses, gonflées de pigments ferriques. Les dimensions de ces particules sont assez variables, sensiblement de 1 à 10 microns. Les éléments les plus volumineux ont d'ailleurs une forme polylobée qui semble correspondre à la coalescence de plusieurs éléments. Ces cellules bourrées de pigments forment des masses plus ou moins importantes, enserrées dans un tissu collagène dense avec, par places, des éléments lymphocytaires souvent groupés en amas lymphoïdes sans qu'en aucun point, on puisse évoquer une structure néoplasique ou leucémique.

Au-dessous de cette nappe sous-épidermique se trouvent les éléments musculaires, mais ce muscle est très modifié. Des faisceaux de une à six fibres musculaires au premier abord assez bien conservées sont séparés par des bandes de tissu adipeux à l'intérieur desquelles on retrouve les mêmes amas de cellules macrophagiques sidérophages que nous avons décrites précédemment dans le tissu adipeux sous-épidermique. Toutefois, dans le muscle, ces amas ne sont pratiquement pas enserrés dans du tissu fibreux et ils ont tendance à se disposer non pas en amas globuleux, mais en bandes allongées entre les paquets de fibres musculaires conservées.

Si l'on ne trouve pas autour des amas ferriques une sclérose notable, on retrouve cependant, entre les fibres musculaires quelques fibres collagènes anormales. Quant aux granulations de fer, leur quantité est trop importante pour que l'on puisse affirmer que le pigment est uniquement entra-cellulaire.

Les fibres musculaires elles-mêmes ont conservé presque toujours leurs striations longitudinales et transversales. Elles sont cependant souvent d'un calibre assez irrégulier et contiennent quelques rares vacuoles. On note également une hyperplasie manifeste des noyaux du sarcolemme qui se disposent volontiers en petites piles assez serrées à la périphérie de certaines fibres musculaires.

Il semble bien exister, en outre, quelques noyaux disposés anormalement au centre de la fibre. Malgré cela, en aucun point la structure histologique ne permet d'évoquer celle que l'on a eu l'occasion d'observer au cours des dystrophies musculaires ou des polymyosites. Quelques fibres musculaires relativement étroites, avec des noyaux alignés au centre de la fibre pouvaient à la rigueur être interprétés comme des figures de dégénérescence.

On n'a pas observé d'altérations vasculaires notables, bien que les vaisseaux soient souvent noyés au sein des amas de sidérophages.

Enfin, dans le muscle on a pu mettre en évidence quelques îlots de cellules lymphoïdes et même des petites formations plus importantes, mais nulle part, ces dispositions n'ont pu faire suspecter l'existence d'un processus leucémique ou d'un lymphosarcome.

Les quelques éléments ganglionnaires qui ont été examinés au microscope ne montrent pas d'autres modifications que l'existence, au niveau des cellules endothéliales, d'un processus macrophagique et sidérophagique.

CONCLUSIONS

1° Les auteurs britanniques, Richmond, Hadow et Horning, ont attiré l'attention sur la production de sarcomes chez le rat après des injections répétées au même point d'un complexe fer dextran, sans pouvoir prouver cependant, que le fer injecté était l'agent de la cancérisation.

2° Une expérimentation conduite dans des conditions précises n'a pas permis de constater, par des injections de ce même complexe au même endroit, l'apparition de sarcome au point d'injection.

— 128 rats mâles et femelles ont reçu des injections répétées intra-musculaires et ont permis de mettre en évidence un sarcome de la vessie chez un rat mâle âgé de plus de douze mois et ayant reçu plus de 90 mg de fer, deux épithéliomas mammaires chez des rats ayant reçu respectivement 110 et 70 mg de fer, et un lymphosarcome.

26 témoins n'ont révélé rien d'anormal.

— 408 souris de race Swiss, de sexe différent, ont permis d'observer 7 épithéliomas mammaires chez les traités, dont 2 chez 162 mâles et 5 chez 95 femelles.

On a découvert également 7 épithéliomas mammaires chez 151 témoins, et tous furent notés dans le lot des 75 femelles.

— 46 souris mâles de souche P.S. qui présentent habituellement un pourcentage assez élevé d'épithéliomas mammaires spontanés, n'ont permis de déceler ni épithélioma, ni sarcome au point d'injection.

3° Le faible pourcentage de cancers obtenus ne permet pas d'évoquer l'action du complexe injecté et il est inté-

ressant de signaler qu'il n'a jamais été découvert de sarcome au point d'injection.

4° Les lésions histologique chez les animaux traités sont avant tout des lésions de surcharge ferrique portant à la fois sur les viscères et sur le tissu musculaire au point d'injection. On constate à ce niveau des lésions importantes et la dégénérescence d'un certain nombre de fibres musculaires.

Vu :

Le Doyen,
H. HERMANN

Vu :

Le Président de la Thèse,
P. GIRARD.

Vu et permis d'imprimer : Lyon, le 30 Novembre 1962.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
P. LOUIS

BIBLIOGRAPHIE

- BAIRD I.-M. and PODMORE D.-A. — Intramuscular iron therapy in iron deficiency anemia. *The Lancet*, 1954, 2, 942.
- Intramuscular iron. *Brit. Med. J.*, 1955, 1, 290.
- BAKER S.-B. de C., GOLBERG, MARTIN L.-E. and SMITH J.-P. — Tissue Changes following injection of iron dextran complex. *J. Pathol. Bact.*, 1961, 82, 453.
- BERESFORD C.-R., GOLBERG L. and SMITH J.-P. — Local effects and mecanisme of absorption of iron preparations administered intramuscularly. *Brit. J. Pharmacol.*, 1957, 12, 107.
- CROWLEY J.-D. and STILL W.-J.-S. — Metastatic carcinoma at the site of injection by iron dextran complex. *Brit. Med. J.*, 1960, 1, 1.411.
- GOLBERG, FEE W., MARTIN L.-E. — Iron dextran complex in mice and men. *The Lancet*, 1955, 1, 818.
- GOLBERG L. and SMITH J.-P. — Changes associated with the accumulation of excessive amounts of iron in certain organs of the rat. *Brit. J. Exp. Pathol.*, 1958, 39, 59.
- GOLBERG L., MARTIN L.-E., BATES C.-M. and BATCHELOR A. — Stimulation of liver and phosphatase activity following the parenteral injection of excessive doses of iron. *Biochem. J.*, 1959, 72, 20 p.
- GOLBERG L. — Hazards of iron dextran. *Brit. Med. J.*, 1960, 2, 1598.
- GOLDBERG L., MARTIN L.-E. and SMITH J.-P. — Iron overloading phenomena in animals. *Toxicol. and Appl. Pharmacol.*, 1960, 2, 683.
- GOLDBERG L., SMITH J.-P. and BAKER S.-B. — Note de correspondance. *Brit. Med. J.*, 1960, 1, 1734.
- GOLDBERG L. et Coll. — « Imferon ». *Brit. Med. J.*, 1960, 1, 958.
- GRIMES A.-J. and HUTT H.-S.-R. — Metabolisme of/59 Fe-dextran complex in human subject. *Brit. Med. J.*, 1957, 2, 1074.

- HADDOW A. — « Imferon » and cancer. *Brit. Med. J.*, 1960, 1, 1734.
- « Imferon » and cancer. *Brit. Med. J.*, 1960, 1, 1734.
- « Imferon » and cancer. *Brit. Med. J.*, 1960, 2, 663.
- HADDOW and HORNING. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1960, 24, 109.
- HADDOW A. — Carcinogenicity of iron dextran complex. *The Lancet*, 1960, n° 7147, 441.
- Carcinogenic risks of iron dextran. *Brit. Med. J.*, 1960, 1, 788.
- MONNET P., THEVENON J. et REBOUILLAT M. — Le fer dextran par voie intramusculaire dans l'anémie précoce du prématuré. *Rev. Lyon. de Méd.*, 1959, VIII, 675.
- NEIMAN N., DE VEZEAUX DE LAVERGNE E., PIERSON H., STEHLIN S. et DAUBINET G. — Le métabolisme du fer chez le nourrisson et le problème de l'anémie hypochrome « physiologique » de la première enfance. Essai de traitement martial. *Sem. Hôp. de Paris*, 1957, 33, 68, 11. 4007, pp. 699-710.
- PEDERSEN J.-G.-A. — « Imferon ». *Brit. Med. J.*, 1960, 1, 1564.
- RICHMOND H.-G. — *Scot. Med. J.*, 1957, 2, 169.
- Induction of sarcome in the rat by iron dextran complex. *Brit. Med. J.*, 1959, 1, 947.
- ROBINSON C.-E.-G., BELL D.-N. and STURDY J.-H. — Possible association of malignant neoplasm with iron dextran injection. *Brit. Med. J.*, 2, 648.
- THEVENON J. — L'anémie du prématuré. Son traitement par le fer dextran intramusculaire. Thèse Doct. en Médecine, Lyon, 1960.
- VIALIER J. et Mme REBOUILLAT M. — Recherche sur l'activité in vivo chez le rat d'un complexe fer dextran. Réunion Biol. de Lyon, séance du 19 mars 1962.
- WORTHY T.-S. and WYNN E.-J.-C. — Metastatic carcinoma at the site of injection of penicillin. *Brit. Med. J.*, 1960, 2, 1208.

TABLE DES MATIERES

Introduction	13
CHAPITRE PREMIER. — Historique et position du problème	15
A. — Le fer dextran	15
B. — Rôle Cancérigène du complexe fer dextran	20
CHAPITRE II. — Expérimentations personnelles	29
A. — Expérimentation chez le Rat ..	29
B. — Expérimentation chez la Souris	34
CHAPITRE III. — Considérations d'ordre immunologique	39
CHAPITRE IV. — Considérations anatomo-pathologiques	45
Conclusions	53
Bibliographie	55

